

DESCRIPTION D'UNE METHODE RAPIDE DE DETERMINATION DE L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE FOLIAIRE DE L'ARACHIDE AU CHAMP

Par

D. J. ANNEROSE

Chercheur **IRHO/CIRAD**, en poste à l'**ISRA**
Direction des Recherches sur les Productions Végétales

RESUME

Afin de s'affranchir de la complexité et du coût associés aux méthodes classiques de détermination de l'assimilation de CO₂ en plein champ, une méthode simple est décrite. Elle est caractérisée par l'absence de connexions entre le circuit de mesure et la chambre d'assimilation et permet la détermination de la teneur en CO₂ dans des petits volumes de gaz. Une description de la chambre d'assimilation construite pour les mesures sur les feuilles d'arachide est donnée. L'efficacité de cette méthode est évaluée sur du matériel végétal pour différentes conditions d'alimentation hydrique.

Mots clés : *Arachis hypogaea* • Alimentation en eau • Assimilation • Photosynthèse • Physiologie végétale • Dispositif expérimental • Mesure.

SUMMARY

A simple method to reduce the complexity and the costs associated with classical methods of determining CO₂ intake in the fields is described. It is characterized by the non-existence of connections between the measuring circuit and the intake chamber and permits the determination of the amount of CO₂ in small volumes of gas. The intake chamber built for measurements taken on the groundnut leaves is

described. The efficiency of this method is evaluated on vegetable matter for various conditions of hydric food.

Key Words *Arachis hypogaea* • water supply • intake • photosynthesis • plant physiology • experimental design • measure.

RESUMO

Para livrar-se da complexidade e do custo ligados aos métodos clássicos de determinação da assimilação de CO₂, em campo livre, um método simples foi descrito. Ele se caracteriza pela ausência de conexões entre o circuito de medida e a câmara de assimilação e possibilita a determinação do teor de CO₂, em pequenos volumes de gás. É dada uma descrição da câmara de assimilação construída para as medidas sobre as folhas de amendoim. A eficiência deste método foi avaliada sobre material vegetal por diversas condições de alimentação hídrica.

Palavras chaves : *Arachis hypogaea* • alimentação hídrica • assimilação • fotossíntese • fisiologia vegetal • dispositivo experimental • medida.

INTRODUCTION

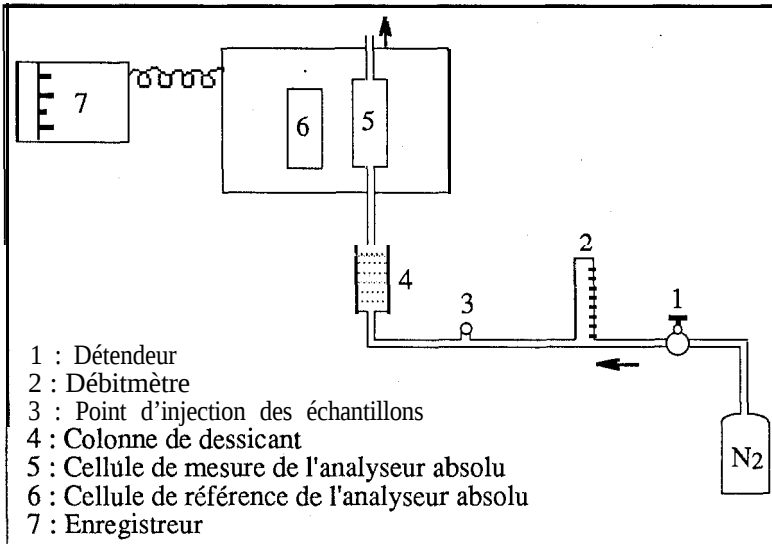
De nombreux travaux ont mis en évidence les effets de la sécheresse sur la photosynthèse (9, 6, 11, 19, 15, 4, 17, 1, 7). Le maintien de l'activité photosynthétique lors d'un stress hydrique est un des mécanismes d'adaptation les plus importants pour assurer une productivité satisfaisante en condition de sécheresse. Sa détermination nécessite cependant la maîtrise d'un grand nombre de paramètres ce qui limite son domaine d'étude principalement au laboratoire (18, 13). Or le développement de la plante et par conséquent les processus physiologiques dont il dépend sont notablement différents en conditions contrôlées et au champ (densité racinaire, vitesse d'installation du stress hydrique, possibilité d'acclimatation de la plante, etc...). Ces constatations sont à l'origine du développement de systèmes transportables permettant la détermination au champ de l'activité photosynthétique nette (A.P.N.) d'une feuille ou d'une culture (3, 14, 16). Cependant leur taille et leur inertie limitent les possibilités de détermination de l'A.P.N. sur de nombreux traitements durant un court intervalle de temps. D'autres systèmes développés par la suite ont permis de réduire la durée des mesures mais ils nécessitent toujours la disposition d'une source électrique importante pour l'alimentation des différents appareils de mesure, ce qui ne facilite pas leur mobilité (12, 20). ATKINS et PATE (1977) ont décrit une technique permettant de déterminer la teneur en CO₂ de petits volumes de gaz, l'avantage de cette technique résidant dans le fait que les connexions directes entre la chambre d'assimilation et le circuit d'analyse sont supprimées. L'adaptation de cette technique (8, 10) a permis la mise au point d'une méthode simple de détermination au champ de l'A.P.N. Dans le cadre du programme d'amélioration de l'adaptation à la sécheresse de l'arachide conduit au CNRA de Bambey, l'obtention d'informations sur le niveau d'A.P.N. foliaire au champ et le degré de tolérance à la sécheresse de ce mécanisme pour les différentes variétés à lignées et testées est indispensable. L'étude des relations entre ce mécanisme physiologique et ceux déjà largement étudiés (régulation des pertes en eau, amélioration de l'absorption racinaire, résistance protoplasmique à la dessiccation, etc.. .) permettra d'affiner la description d'un idéotype adapté à une situation climatique donnée. Une chambre d'assimilation mise au point à cet effet est décrite dans ce qui suit. L'objectif étant de disposer d'un système rapide et peu encombrant permettant la détermination de l'A.P.N. foliaire au champ de plusieurs variétés pour plusieurs intensités de sécheresse dans un intervalle de temps suffisamment court pour permettre des comparaisons satisfaisantes. Un rappel de la technique utilisée est aussi présenté.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Principe

Le circuit d'analyse des gaz est constitué d'un analyseur infra-rouge absolu (HARTMANN & BRAUN type URAS 2), d'une bouteille d'azote (NJ servant de gaz transporteur, d'un débitmètre et d'une colonne de dessiccant contenant du perchlorate de magnésium en grain (figure 1). L'azote passe à travers le système à un débit de 25 l/heure. Les échantillons de gaz à analyser sont successivement injectés à la seringue en amont de la colonne de dessiccant et sont entraînés par le flux d'azote à travers la cellule de mesure de l'analyseur. Le signal de sortie de l'analyseur est transcrit sur un potentiomètre enregistreur (SERVOGOR type RE 512). Des échantillons de gaz de différentes concentrations en CO₂ sont utilisés pour étalonner le système. Ces différentes concentrations en CO₂ sont obtenues par injection dans le circuit de volumes variables de gaz de concentration en CO₂ connue (360 µl/l). Ainsi, si l'injection dans le circuit de 5 ml d'air à 360 ppm de CO₂ représente 360 µl/l, 2, 5 ml représentent 180 µl/l et 1 ml 72 µl/l. Chaque injection d'échantillon de gaz produit une réponse de l'ensemble analyseur-enregistreur sous forme d'un pic (figure 2) dont la hauteur est proportionnelle à la concentration de CO₂, pour un débit d'azote constant. Une courbe typique d'étalonnage est représentée sur la figure 3, d'autres points obtenus à partir d'un gaz de concentration en CO₂ de 250 µl/l sont représentés et

Figure 1 : Schéma du circuit d'analyse



s'alignent correctement sur la courbe obtenue, ce qui valide la méthode de calibration utilisée. La courbe d'étalonnage étant linéaire et passant par le zéro peut donc à la limite être obtenue à partir d'un seul point.

Chambre d'assimilation et modalités des mesures

La chambre d'assimilation est construite en plexiglass de 2 mm d'épaisseur (figure 4). Ses dimensions, $L = 12$ cm, $l = 10$ cm, $h = 3,9$ cm, ont été déterminées afin de permettre le positionnement correct d'une feuille d'arachide bien développée. Un joint caoutchouté placé sur le pourtour de la chambre permet de maintenir son étanchéité en position fermée. Un ventilateur (MICRONEL type 24 1 L) est disposé à l'intérieur de la chambre dans un angle opposé à l'ouverture. Il est alimenté par une batterie de 9 volts et assure un débit de 70 l/min, ce qui permet d'éviter la formation de poches d'air inerte dans la chambre. Deux bouchons en caoutchouc placés dans une des parois verticales de la chambre permettent le prélèvement à la seringue des échantillons de gaz à analyser. L'étanchéité de la chambre a été vérifiée au laboratoire en la plaçant, ventilateur en marche, dans des conditions de teneur en CO_2 de l'air ambiant plus élevées que celles de l'air enfermé dans la chambre. Elle a par la suite été utilisée afin de déterminer l'A.P.N foliaire d'une variété d'arachide dans deux conditions d'alimentation hyclrique. La procédure d'exécution de la mesure est la suivante : le ventilateur est mis en marche, la feuille choisie est rapidement disposée **dans** la chambre en maintenant sa position initiale par rapport au rayonnement du soleil, un mastic caoutchouté entourant le pétiole et appliqué contre la chambre assure l'étanchéité. Deux échantillons d'air de 5 ml sont simultanément prélevés à la seringue afin d'estimer la concentration initiale de CO_2 dans la chambre et deux autres sont prélevés 30 à 60 secondes plus tard pour déterminer la concentration finale. La concentration en CO_2 est calculée comme étant la moyenne des valeurs obtenues pour les deux échantillons. Les seringues contenant les échantillons de gaz sont placées dans une boîte isotherme et la feuille dégagée de la chambre. La feuille est prélevée, placée dans une fiole humidifiée puis dans la boîte isotherme. A la fin des prélèvements, les seringues et les feuilles sont transportées au laboratoire. Les échantillons sont injectés dans le circuit d'analyse. La surface des feuilles est déterminée par planimétrie (Li COR: Li 3000)

Figure 2 : Courbes de réponse de l'ensemble analyseur-enregistreur obtenues pour l'injection de 360 ppm, 288 ppm, 180 ppm, 250 ppm et 150 ppm de CO, (5 ml, 4 ml, 2,5 ml de 360 ppm de CO, et 5 ml et 3 ml de 250 ppm)

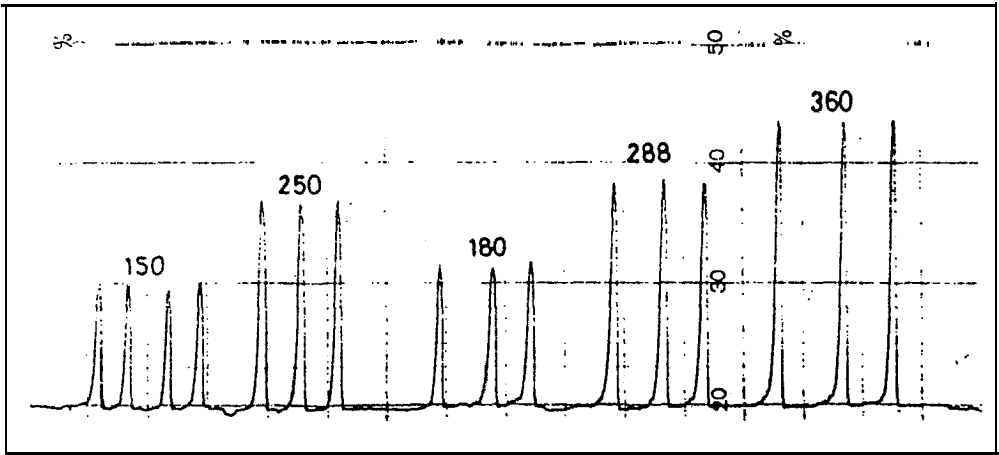
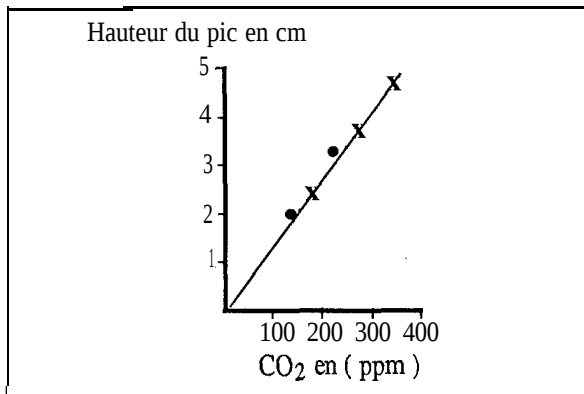


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du système obtenue par l'injection de 5 ml, 4 ml et 2,5 ml de gaz à 360 ppm soit 360 ppm, 288 ppm et 180 ppm de CO, (croix)

Les cercles (•) représentent les points obtenus par l'injection de 5 ml et 3 ml d'air à 250 ppm de CO, soit 250 et 150 ppm de CO,

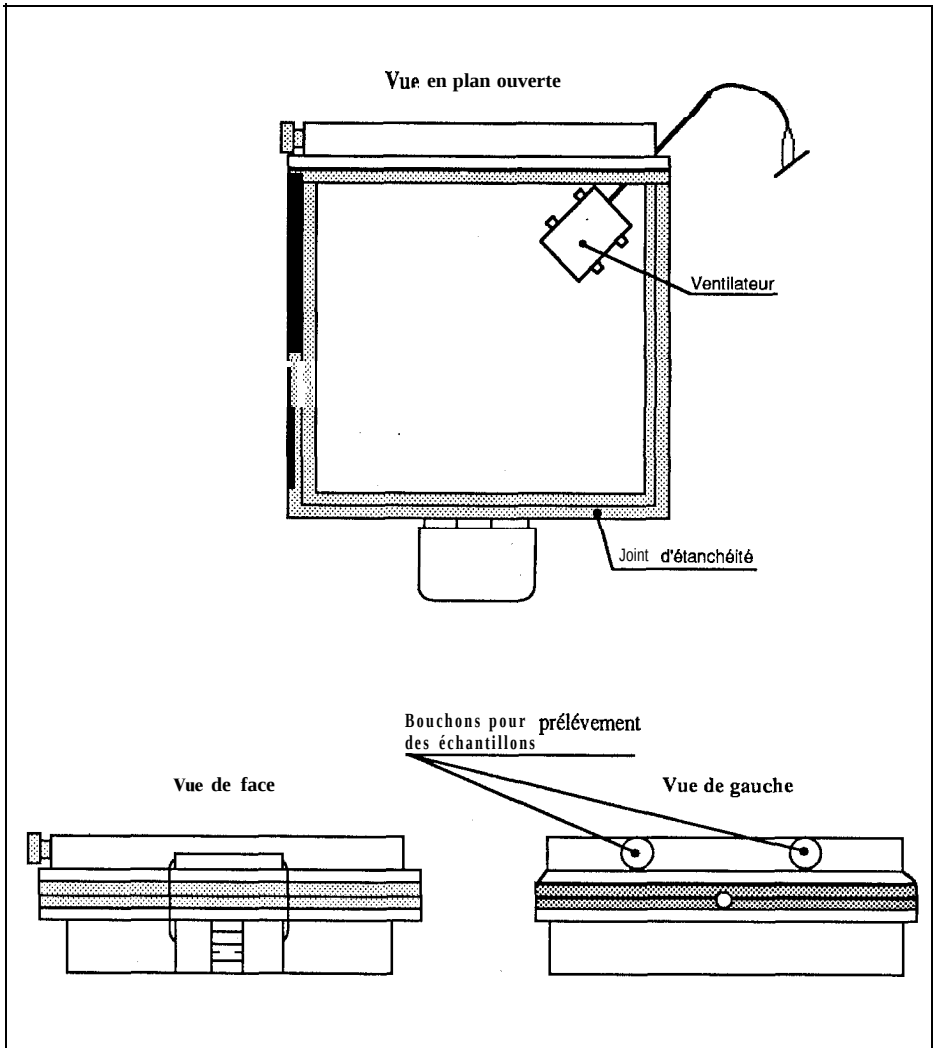


L'A.P.N foliaire est déterminée selon l'équation :

$$\text{A.P.N (mg CO}_2\text{.dm}^{-2}\text{.h}^{-1}) = 1,964 \text{ mg CO}_2\text{.cm}^{-3} \times V \times 1/\text{SF} \times A \cdot 10^{-6} \times 273/T \times 1013/P \times 3600$$

avec V volume de la chambre en cm³, SF la surface foliaire en dm², A la vitesse de consommation de CO, en ppm/s, T la température ambiante en ° K et P la pression atmosphérique en mbars.

Figure 4 : Chambre d'assimilation foliaire de l'arachide



RÉSULTATS ET DISCUSSION

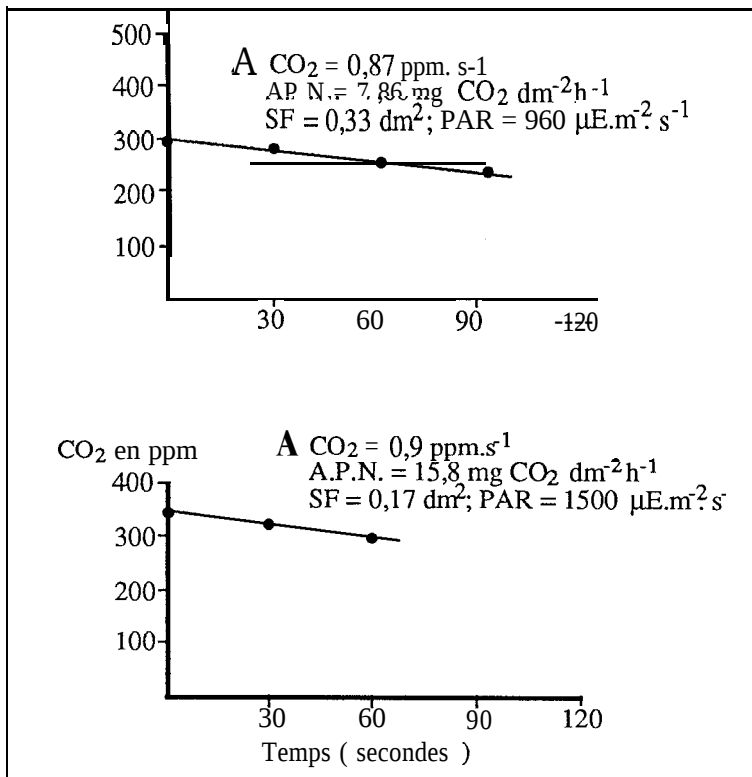
Le tableau 1 indique l'évolution en fonction du temps de la teneur en CO₂ dans la chambre placée dans un air riche en CO₂. Il n'y a pas de changement significatif de la concentration en CO₂ dans la chambre durant 4 minutes et une légère augmentation 7 minutes plus tard. Il est donc nécessaire que la durée de la période de prélèvement de l'air dans la chambre n'excède pas 4 minutes pour ne pas conduire à une sous-estimation de la consommation réelle en CO₂,

Tableau 1: Evolution de la teneur en CO₂ dans la chambre vide placée dans une atmosphère riche en CO₂. Teneur externe en CO₂ de 504 ppm

Concentration en CO ₂ dans la chambre (ppm)	Temps					
	0'	1'	2'	3'	4'	7"
	441	441	441	441	442	448

Lorsqu'une feuille est enfermée dans la chambre, la concentration en CO₂ diminue de façon linéaire en fonction du temps durant une période qui est fonction de l'intensité de la photosynthèse de la feuille étudiée (figure 5). La vitesse de consommation en CO₂ (terme A dans l'équation 1) est obtenue directement à partir de la pente de cette courbe et permet la détermination de l'A.P.N. Un intervalle de temps de 60 secondes a été choisi entre les prélèvements

Figure 5 : Variations de la teneur en CO₂ pour une feuille d'arachide enfermée dans la chambre sous différentes intensités lumineuses.

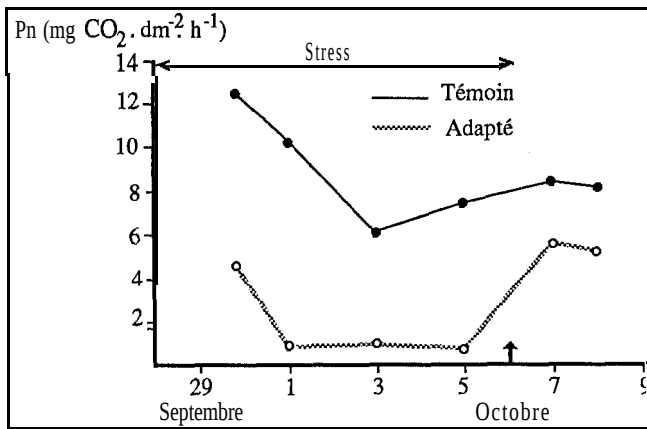


initial et final afin d'éviter les effets dépressifs sur les stomates de la diminution de la teneur en CO_2 et permettre une estimation correcte de la diminution en CO_2 dans la chambre. Dans ces conditions, une mesure peut être effectuée en moins de 2 minutes.

Durant la saison des pluies 1985, l'A.P.N. foliaire d'une variété d'arachide en phase de fructification, la 73-30, a été mesurée au champ entre 12 et 13 heures durant une période de sécheresse sur un lot témoin précédemment bien irrigué et un lot « adapté » ayant subi une série de 3 cycles de sécheresse entrecoupés de périodes de réhydratation à capacité au champ (figure 6). L'écart-type moyen sur l'ensemble des mesures était de $1,06 \text{ mg de CO}_2/\text{dm}^2/\text{h}$ et les différences entre les valeurs de teneurs en CO_2 obtenues par les 2 prélèvements étaient inférieures à 4,5% avec une valeur moyenne de 0,8%. Les mesures de température n'ont pas montré

Figure 6 : Evolution de l'assimilation nette journalière moyenne de pieds d'arachide soumis à des conditions hydriques différentes.

Le lot adapté a précédemment subi 3 cycles de sécheresse entrecoupés de périodes de réhydratation à capacité au champ. ↑ Irrigation



de variations thermiques à l'intérieur de la chambre supérieures à $0,5^\circ \text{C}$ durant la période de mesure avec des températures ambiantes atteignant parfois 42°C .

Cette technique de détermination de l'A.P.N. apparaît particulièrement adaptée par sa simplicité et sa rapidité aux études au champ. La chambre décrite peut être facilement modifiée pour l'étude de l'A.P.N. d'autres espèces en fonction de leur morphologie et de leur capacité photosynthétique. Les échantillons de gaz prélevés peuvent être conservés plusieurs heures au frais dans une boîte isotherme avant d'être analysés, ce qui permet d'effectuer des mesures sur des sites éloignés du laboratoire. Nous comptons l'utiliser prochainement afin de déterminer la présence éventuelle d'une variabilité génétique de l'arachide en ce qui concerne la tolérance de la photosynthèse à la sécheresse comme cela a déjà été par ailleurs observé pour d'autres espèces (5).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 ACKERSON R.C. et HEBERT R.R. 1981.- Osmoregulation in cotton in response to water stress. I. Alterations in photosynthesis, leaf conductance, translocation and ultrastructure. *Plant physiol.* 67 : p. 484-488.
- 2 ATKINS C.A. et PATE J.S. 1977.- An IRGA technique to measure CO₂ content of small volume of gas from the internal atmosphere of plant organs. *Photosynthetica* 11 : p. 214 - 216.
- 3 BAKER D.N., HESKETH J.D. et DUNCAN W.G. 1971.- The simulation of growth and yield in cotton. I. Gross photosynthesis, respiration and growth. *Crop Science* 12 : p. 431-435.
- 4 BHAGSARI A.S., BROWN R.H. et SCHEPERS J.S. 1976.- Effects of moisture stress on photosynthesis and some physiological characteristics in peanuts. *Crop Science* 16 : p. 712-715.
- 5 BLUM A. 1979.- Genetic improvement of drought resistance in crop plants. In «*Stress Physiology in crop Plants*», Ed. J. Wiley & Sons, p. 429-445.
- 6 BOYER J.S. 1970. Differing sensitivity of photosynthesis to low leaf water potentials in corn and soybean. *Plant physiol.* 46 : p. 236-239.
- 7 BUNCE J.A. 1982.- Effects of water stress on photosynthesis in relation to diurnal accumulation of carbohydrates in leaves. *Can. J. bot.* 60 : p. 1952-1960.
- 8 CLEGG M.D., SULLIVAN C.Y. et EASTIN J.D. 1978.- A sensitive technique for the rapid measurement of carbon dioxide concentration. *Plant physiol.* 62 : p. 924-926.
- 9 EL SHARKAWY M.A. et HESKETH J.D. 1964.- Effects of temperature and water deficit on leaf photosynthesis rate of different species. *Crop Science* 4 : p. 514-518.
- 10 GARRITY D.P., SULLIVAN C.Y. et WATTS D.G. 1984.- Rapidly determining sorghum canopy photosynthetic rates with a mobile field chamber. *Agron. J.* 76 : p. 163-165.
- 11 HSIAO T.C. 1973.- Plant response to water stress. *Ann. Rev. Plantphysiol.* 24 : p. 519-570.
- 12 JONES J.W., BARFIELD C.S., BOOTE K.J., SMERAGE G.H. et MANGOLD J. 1982.- Photosynthetic recovery of peanuts to defoliation at various growth stages. *Crop Science* 22: p. 741-746.
- 13 LONGUENESSE J.J., CONUS G. et SARROUY C. 1982.- Température nocturne et photosynthèse. II. Une chambre d'assimilation climatisée pour la mesure des échanges gazeux de plante entière. *Agronomie* 2 : p. 777-782.
- 14 LOUWERSE W. et EIKHOUDT J.W. 1975.- A mobile laboratory for measuring photosynthesis, respiration and transpiration of field crops. *Photosynthetica* 9 : p. 31-34.
- 15 PHAM THI A.T. et VIEIRA DA SILVA J.B. 1976.- Action des déficits hydriques sur la photosynthèse et la respiration des feuilles du cotonnier. In *Les Processus de la Production Végétale Primaire*. Ed. Gauthier-Villars. p. 183-202.
- 16 ROBELIN M. 1984.- Méthode d'approche pour la hiérarchisation des critères de jugement de la résistance à la sécheresse. Actes du colloque «Résistance à la sécheresse en milieu intertropical : Quelles recherches pour le moyen terme ?», Dakar 1984. CIRAD-ISRA, p. 169-183.

- 17 RODE J.C. et BETHENOD O. 1980.- Influence de lacarence hydrique sur le comportement photosynthétique du lin. *Ann. Agron.* 31 : p. 285-295.
 - 18 SAMISH Y.B. et PALLAS Jr. J.E. 1973.- A semi closed compensating system for the control of CO₂ and water vapor concentrations and the calcul of their exchange rates. *Photosynthetica* 7 : p. 345-350.
 - 19 SLATYERR.O. 1973.- The effect of internal water status on plant growth, development and yield. In *PLant Response to Climatic Factors*. Ed. Slatyer R.O. Unesco. p. 177-191.
 - 20 WELLS R., SCHULZEL.L., ASHLEY D.A., BOERMAH.R. et BROWNR.H. 1982.- Cultivar differences in canopy apparent photosynthesis and their rclationship to seed yield in soybeans. *Crop Science* 22 : p 886-890.
-